



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Detección de anticuerpos contra el virus de lengua azul
en ovinos de dos localidades del departamento de Junín**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Jessica Yanet JURADO PUCLLAS

ASESOR

Hermelinda RIVERA GERÓNIMO

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Jurado, J. Detección de anticuerpos contra el virus de lengua azul en ovinos de dos localidades del departamento de Junín [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2019.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

CÓDIGO ORCID DEL AUTOR: <https://orcid.org/0000-0003-3064-7174>

CÓDIGO ORCID DEL ASESOR: <https://orcid.org/0000-0003-1598-3081>

DNI DEL AUTOR: 45291953

GRUPO DE INVESTIGACIÓN: GIVIVET

INSTITUCIÓN QUE FINANCIA PARCIAL O TOTALMENTE LA INVESTIGACIÓN:
Vicerrectorado de investigación y posgrado de la UNMSM con código A18080434

UBICACIÓN GEOGRÁFICA DONDE SE DESARROLLO LA INVESTIGACIÓN, DEBE
INCLUIR LOCALIDADES Y COORDENADAS GEOGRÁFICAS: Jauja
(11°46'30"S 75°30'00"O) y Chanchamayo (11°03'16"S 75°19'45"O)

AÑO O RANGO DE AÑOS QUE LA INVESTIGACIÓN ABARCO: 2017



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el **lunes 24 de junio de 2019**, a las **12:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° 0099-EPMV/FMV-2019, integrado por los siguientes profesores:

MV. PhD Leyva Vallejos, Víctor Raúl
MV Mg. Hermelinda Rivera Gerónimo
MV Mg. Ramírez Velásquez, Mercy Gisela
MV. Dr. Fidel Francisco Suárez Aranda

Presidente de Jurado
Asesor de la Tesis
Miembro del Jurado
Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **JURADO PUCLLAS, JESSICA YANET** para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

“DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LENGUA AZUL EN OVINOS DE DOS LOCALIDADES DEL DEPARTAMENTO DE JUNÍN”,

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesora de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECISIETE (17)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **13:10 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:


Leyva Vallejos, Víctor Raúl MV PhD Prof Principal D E


Hermelinda Rivera Gerónimo MV Mg Prof Principal D E


Ramírez Velásquez, Mercy Gisela MV Mg Prof Asociado D E


Fidel Francisco Suárez Aranda MV Dr Esp Prof Principal T C



DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia, quienes me enseñaron a ser valiente en todas las situaciones y adversidades que se interponen en la vida. Mis padres Melquiades y Teófila quienes con su amor y trabajo me educaron y apoyaron en toda mi formación profesional. Además, a mis hermanos Andrés, Julio y Wilber, por su dedicación y preocupación por mi bienestar personal, emocional y profesional.

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que han contribuido al proceso y conclusión de este trabajo. En primer lugar, quiero agradecer a la Mg. MV. Hermelinda Rivera Gerónimo directora de tesis, debido a su apoyo incondicional tanto personal como institucional, además fue quien me alentó en cada momento de la investigación, muchas gracias doctora.

A todos los integrantes del laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria. Al PhD. Juan More Bayona, Mg. MV. Mercy Ramírez Velásquez, MV. Ana Fiorella Castillo Espinoza y a Vicente Jonathan Mercado Bordón mi profunda gratitud por su apoyo.

Al PhD. Miguel Rojas Montes y mi incondicional amigo Dennis Alexander Navarro Mamani por su tiempo y paciencia en explicarme parte de mi tesis y sus invaluable consejos.

A mis amigos y amigas (sus nombres están escritos en mi corazón), no existen palabras para plasmarlas en pocas páginas, solo quiero agradecerles profundamente por sus consejos y apoyo. Eternamente agradecida, los quiero.

A Joan por su apoyo, cariño, comprensión y paciencia. Mi eterno agradecimiento a él.

Un agradecimiento especial al vicerrectorado de investigación y posgrado de la UNMSM por el financiamiento del presente trabajo con código: A18080434

INDICE

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE CUADROS	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1. IMPORTANCIA DE LA PRODUCCIÓN OVINA EN EL PERU	3
2. ENFERMEDAD DE LENGUA AZUL	5
2.1 Agente etiológico	5
2.2 Vector de la enfermedad de Lengua Azul	6
2.3 Clasificación taxonómica	7
3. PROTEÍNAS ESTRUCTURALES	7
4. REPLICACIÓN VIRAL	8
5. PATOGÉNESIS DE INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LENGUA AZUL	9
5.1 Transmisión	9
5.2 Replicación en tejidos y signos clínicos	10
5.3 Lesiones patológicas	11
6. EPIDEMIOLOGÍA	12
7. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	13
7.1 Virus De La Enfermedad Hemorrágica Epizootica	13
7.2 Virus De La Fiebre Aftosa	14
7.3 Fotosensibilización	14
7.4 Estomatitis Vesicular	14
8. INMUNIDAD	15
8.1 La inmunidad innata	15
8.2 Inmunidad humoral	15
8.3 Inmunidad celular	16
9. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	16
9.1 Inmunodifusión En Gel De Agar (IDGA)	16

9.2 Ensayo Por Inmunoadsorción Ligado A Enzimas (ELISA)	16
9.3 Neutralización Viral (VN)	17
10. CONTROL	17
10.1 Vacunas vivas atenuadas	17
10.2 Vacunas inactivadas	18
10.3 Vacunas de nueva generación	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1 Lugar y tiempo de estudio	19
3.2 Tamaño de muestra	20
3.3 Colecta y transporte de muestras de suero de ovino	21
3.4 Análisis serológico	21
3.5 Análisis de información	22
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	28
VII. BIBLIOGRAFÍA	39

RESUMEN

Lengua Azul (LA) es una enfermedad emergente causada por el virus de la lengua azul (VLA), un virus transmitido a los rumiantes domésticos y silvestres por la picadura de mosquitos del género *Culicoides* spp. En el Perú los estudios de seroprevalencia del VLA en ovinos u otras especies son escasos, y por otro lado, el cambio climático está contribuyendo a la emergencia de enfermedades virales que afectan la salud animal por la migración del vector biológico a mayores altitudes y latitudes como el VLA ocasionando severas pérdidas económicas. El objetivo del presente estudio fue detectar anticuerpos contra el virus lengua azul en ovinos de doble propósito de una empresa ovejera de la sierra central ubicada a 3800 msnm en el distrito de Canchayllo, provincia de Jauja, Junín (grupo A), y en ovinos de pelo de pequeños criadores de cuatro distritos de la provincia de Chanchamayo, Junín ubicado a 600 msnm (grupo B). Se colectaron muestras de sangre de ovinos (n= 306) mayores a 4 meses de edad de ambos sexos del grupo A e igualmente de ovinos de pelo (n=82) del grupo B de cuatro distintos distritos: Perené (n=56), San Luis de Shauro (n=13), San Ramón (n=8) y Pichanaki (n=5) Chanchamayo, Junín. Los anticuerpos fueron detectados mediante la prueba de ELISA de competición. El 100% de las muestras de los ovinos del grupo A resultaron negativos a anticuerpos contra el VLA, mientras que el 56.1% (46/82) de las muestras de ovinos del grupo B tuvieron anticuerpos contra el virus. Se concluye que no se detectaron ovinos seropositivos a VLA criados a una altitud de 3800 msnm, mientras que el 56.1% de los ovinos situados a 600 msnm presentaron anticuerpos sugiriendo la existencia del vector competente para la transmisión de VLA.

Palabras Clave: Ovejas, virus, lengua azul, anticuerpos, ELISA de competición

ABSTRACT

Bluetongue (LA) is an emerging disease caused by the bluetongue virus (VLA), a virus transmitted to domestic and wild ruminants by the biting midges of the genus *Culicoides* spp. In Peru studies of seroprevalence of VLA in sheep or other species are scarce, and on the other hand, climate change is contributing to the emergence of viral diseases that affect animal health by migrating the biological vector at higher altitudes and latitudes such as the VLA causing severe economic losses. The objective of the present study was to detect antibodies against the bluetongue virus in double-purpose sheep from a sheep-farming company in the central highlands located at 3800 masl in the district of Canchayllo, province of Jauja, Junín (A), and in sheep of hair of small breeders from four districts of the province of Chanchamayo, Junín located at 600 masl (B). Blood samples were collected from sheep (n=306) over 4 months of age of both sexes (A) and also of hair sheep (n=82) (B) from four different districts: Perene (n =56), San Luis de Shauro (n=13), San Ramón (n= 8) and Pichanaki (n=5) Chanchamayo, Junín. The antibodies were detected by the competition ELISA test. 100% of the samples of the double-purpose sheep were negative for antibodies against the VLA, while 56.1% (46/82) of the samples of hair sheep had antibodies against the virus. It is concluded that seropositive sheep were not detected at VLA raised at 3800 masl, while the 56.1% of sheep raised at 600 masl had antibodies, suggesting the presence of the competent vector for the transmission of VLA.

Keywords: Sheep, bluetongue virus, antibodies, ELISA competition

LISTA DE FIGURAS

Descripción		Pág.
Figura 1.	Ciclo de replicación del virus de Lengua Azul	9
Figura 2.	Ciclo de transmisión del VLA por mosquitos del género <i>Culicoides</i>	10
Figura 3.	Ovino sin lesiones (A), Ovino con edema en cara y labios (B), Inflamación del borde coronario (C)	11
Figura 4.	Mapa de las provincias de Junín seleccionados para el muestreo sanguíneo de ovinos (Jauja y Chanchamayo)	20

LISTA DE CUADROS

Descripción		Pág.
Cuadro 1.	Población de ovinos en los principales departamentos del Perú	4
Cuadro 2.	Propósito de las principales razas de ovinos en el Perú	4
Cuadro 3.	Departamentos del Perú y su producción de carne y lana	5
Cuadro 4.	Vectores <i>Culicoides</i> del virus de lengua azul	6
Cuadro 5.	Principales agentes virales del género <i>Orbivirus</i> según la ICTV	7
Cuadro 6.	Número de ovinos procedentes de las provincias de Jauja y Chanchamayo, Junín.	21
Cuadro 7.	Detección de anticuerpos contra el virus de lengua azul (VLA) en ovinos de lana y pelo mediante la prueba de ELISA de competición	23
Cuadro 8.	Detección de anticuerpos contra el virus de lengua azul del distrito de Chanchamayo según sexo	24
Cuadro 9.	Detección de anticuerpos contra el virus de lengua azul del distrito de Chanchamayo según edad	24

I. INTRODUCCIÓN

La población ovina en el Perú fue de casi 24 millones de cabezas en 1961, la misma que ha venido disminuyendo a través de décadas, a diferencia de las otras especies de producción como los camélidos, porcinos y bovinos que muestran significativos crecimientos. Entre 1994 hasta la última década se menciona una población de 9´ 523 198 ovinos según datos de INEI (2012). Los ovinos criollos constituyen el 81% de la población y de éstos el 94.2% se crían en la sierra (INEI, 2012).

La disminución en la población ovina puede deberse a varios factores siendo uno de ellos la escasa asistencia tecnológica ya que el 80% de la población están en manos de pequeños criadores en las zonas altoandinas entre 3000 a 4500 msnm, así mismo, la disminución de los precios de la lana y carne, despoblación del sector rural, agotamiento de los recursos naturales, cambio climático, enfermedades infecciosas, migración del campesino a otras actividades pecuarias más rentables, etc., podrían ser también factores importantes (MINAGRI, 2017; Bett *et al.*, 2017).

El ovino como las otras especies pueden ser afectado por diversas enfermedades bacterianas, parasitarias y virales como el virus de la Lengua Azul (VLA) un arbovirus perteneciente al género *Orbivirus*, familia *Reoviridae* (Mertens *et al.*, 2004). El virus es transmitido a rumiantes domésticos y silvestres por ciertas especies de mosquitos del género *Culicoides* spp., que están expandiéndose a mayores altitudes y latitudes ocasionando severas pérdidas económicas por sus efectos en la salud animal, por afectar la reproducción y por ser restrictiva para el comercio internacional de ovinos y otros rumiantes domésticos en pie y germoplasma.

El cambio climático está permitiendo la expansión de los *Culicoides* spp fuera de su conocido hábitat geográfico (45° Norte y 35° Sur) a mayores latitudes y altitudes como sucedió en muchos países europeos desde el 2006 -2008 donde ocasionaron severos brotes causado por un solo serotipo del VLA donde más de 800 000 cabezas de ovinos fueron afectados. En Bélgica brotes ocurridos en el 2006-2007 ocasionaron pérdidas por 180 millones de Euros (Wilson y Mellor, 2009).

En el Perú Lengua Azul ha sido detectado serológicamente en un grupo pequeño de ovinos (Rosadio *et al.*, 1984; Navarro *et al.*, 2019), en huanganas (*Tayassu pecari*) del trópico (Rivera *et al.*, 2013). Recientemente se ha detectado el segmento 7 del virus de Lengua azul en ovinos y en mosquitos del género *Culicoides insignis* en Pucallpa, Ucayali (Navarro *et al.*, 2018; Navarro *et al.*, 2019). Por otro lado, el Perú es considerado uno de los países más vulnerables a los efectos del cambio climático (MINAM, 2016). Esta condición podría favorecer la migración de los mosquitos vectores del virus a zonas de mayores altitudes donde se desarrollan poblaciones susceptibles de ovinos y otros animales.

El objetivo del presente estudio fue detectar anticuerpos contra el virus de Lengua Azul en ovinos de raza Junín de una empresa ovejera criados a 3800 msnm en la provincia de Jauja, Junín y en ovinos de raza Blackbelly criados a 600 msnm en la provincia de Chanchamayo, Junín en un contexto de vigilancia epidemiológica de la enfermedad de Lengua Azul.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. IMPORTANCIA DE LA PRODUCCIÓN OVINA EN EL PERÚ

El ovino doméstico es un animal que se adapta fácilmente a diferentes medios ambientales y climáticos; siendo su crianza de vital importancia en la economía de la población rural a lo largo del territorio nacional, con mayor énfasis en la zona alto andina del Perú entre los 3000-4200 msnm donde el sistema de crianza es generalmente extensivo mientras que en la costa y selva la crianza es de tipo semi-intensiva a intensiva. El ovino ha logrado mantener su presencia porque se integra con otros tipos de crianzas: vacunos y camélidos, ya que pueden pastorear junto a los bovinos sin que exista competencia por el alimento, permitiendo el mayor uso de la tierra, y de esta manera aprovechar bien los residuos de cosecha como fuente de energía, proteína y fibra (MINAGRI, 2013).

Los ovinos criollos que se crían en el Perú provienen del ovino Churro español traídos durante la conquista, inicialmente estos animales fueron criados en la costa, pero se adaptaron mejor en la sierra. A lo largo del tiempo fueron introduciéndose otras razas de ovinos que fueron utilizados en programas de mejoramiento y es así como se logró una raza propia del Perú, la raza Junín (Santiago, 2011). El departamento de Puno es el primer productor de ovinos con 2'088, 332 animales de la población nacional, seguido por Cusco 1' 251 524 con unidades, Junín con 779, 297 unidades, Huánuco 706, 006 unidades, Ancash con 680, 686 unidades, Huancavelica con 640 242 unidades, Ayacucho con 616, 910 unidades, entre otros (Cuadro 1) (MINAGRI, 2013).

La raza Junín fue establecida en el Departamento de Junín a través de un largo proceso iniciado en el año 1956, siendo reconocido a la raza Junín en el año 1973 por la doctora Helen Newton Turner (Santiago, 2011). El ovino Junín es de doble propósito (carne y lana) adaptado a las condiciones de la sierra del Perú y su vellón es más fino que el vellón de la raza Corriedale (Cuadro 2). Actualmente su núcleo genético lo tiene la SAIS Túpac Amaru (MINAGRI, 2013).

Cuadro 1. Población de ovinos en los principales departamentos de Perú (MINAGRI, 2013)

Ubicación	Población
Puno	2'088,332
Cusco	1'251, 524
Junín	779, 297
Huánuco	706, 006
Ancash	680, 686
Huancavelica	640 242
Ayacucho	616, 910
Otros	2'760, 201
TOTAL	9'523, 198

Cuadro 2. Propósito de las principales razas de ovinos en el Perú (Atto, 2007)

Propósito	Raza
Ovinos productores de lana	Merino Australiano Ramboullt Americano Merino Argentino
Ovinos productores de carne	Hampshire Down Suffolk Polled Dorsets Merino precoz alemán Black Belly Pelibuey Asblack Criollos
Ovinos de doble propósito	Corriedale Romney Marsh Junín
Ovinos productores de leche	Assaf

La problemática de la crianza de ovinos en el país radica, principalmente, en la baja producción y productividad, bajos índices reproductivos, escasa disponibilidad de material genético de calidad, escasa disponibilidad de paquetes tecnológicos al nivel de pequeños productores, uso inadecuado de residuos de cosecha y subproductos agroindustriales, falta de suplementación mineral y alimenticio en épocas de estiaje, falta de tecnologías sobre obtención, conservación y transformación de productos y subproductos y escaso control sanitario (Cuadro 3). En el aspecto económico-social, los ovinos en el Perú es la caja de ahorro del poblador rural andino dentro de su economía familiar, siendo parte de sus costumbres ahorrar en especie animal y el ovino tiene la preferencia por su rápida comercialización (Gómez-Brunet *et al.*, 2011).

Cuadro 3. Departamentos del Perú y su producción de carne y lana (MINAGRI, 2017)

Departamento	Producción de carne (Toneladas)	Producción de lana (Toneladas)
Puno	8891	3035
Junín	3300	1260
Cusco	3232	723
Pasco	1381	659
Huánuco	1751	245
Amazonas	51	4
San Martín	60	0
Madre de Dios	46	0
Loreto	36	0
Ucayali	28	0

2. ENFERMEDAD DE LENGUA AZUL

2.1 El agente etiológico

Lengua Azul es una enfermedad causada por el virus de Lengua Azul (VLA). Esta enfermedad afecta a todos los rumiantes domésticos y silvestres siendo el ovino el más susceptible. El virus Lengua Azul es una partícula en forma de icosaedro sin envoltura con una cubierta proteica que protege al genoma compuesto por 10 segmentos lineales de ARN de doble cadena. Cada segmento codifica 7 proteínas (VP1-VP7) que forman parte de la estructura del virus y 4 proteínas no estructurales, pero de importancia en la biología del virus. De todas las proteínas estructurales del

virus la VP2 y VP5 forman la capa externa de la partícula. La VP2 es la proteína determinante de serotipos y la menos conservada entre todas las proteínas del VLA (Roy, 1989). La proteína VP7 conforma el core interno del virus y es la proteína que induce los anticuerpos específicos del serogrupo del VLA, sin embargo, ocurre una reacción cruzada con el virus causante de la Enfermedad Hemorrágica Epizootica (EHE) (Coetzee *et al.*, 2012).

2.2 Vector de la enfermedad de lengua azul

A la actualidad 1400 especies de *Culicoides* han sido descritos a nivel mundial, de las cuales solo 30 han sido reportadas como vectores competentes y potenciales de VLA. En Europa, *C. imicola* es considerado el vector principal de la cuenca del mediterráneo, pero otras especies diferentes se han implicado en la transmisión de VLA. En particular especies pertenecientes al “grupo culicoides obsoletus”, incluyendo *C. obsoletus*, *C. scoticus*, *C. dewulfi* y *C. chiopterus* y especies del complejo *Pulicaris* han sido encontrado positivo en campo y son implicados como vectores potenciales; mientras que en América del Norte se ha establecido a *C. sonorensis* (Smith y Stallknecht, 1996; Tabachnick, 1996). En América del Sur, se considera como potenciales vectores a *C. pusillus* y *C. insignis*, este último presente en Loreto, Cajamarca y Madre de Dios, pero no fue asociado al VLA ni a otros agentes virales (Felippe-Bauer *et al.*, 2008). En Pucallpa Navarro *et al.*, (2018) identificaron a *C. insignis* en las cercanías de ovinos seropositivos al VLA, así mismo identificaron al seg 7 del VLA en un pool de estos *Culicoides* lo cual implica que el *C. insignis* es un vector del VLA. En el cuadro 4 se presenta algunas especies de *Culicoides* vectores del VLA en el mundo.

Cuadro 4. Vectores *Culicoides* del virus de lengua azul (Meiswinkel *et al.*, 2007)

Vector	País /Continente
<i>C. imicola</i>	África, Europa Mediterránea
<i>C. sonorensis</i>	América del norte y México (norte)
<i>C. insignis</i>	América Central y del Sur
<i>C. brevitarsis</i> , <i>C. wadai</i> , <i>C. fulvus</i>	Sudeste de Asia
<i>C. brevitarsis</i> , <i>C. wadai</i>	Australia, Java
<i>C. obsoletus</i> , <i>C. pulicaris</i>	Europa Central y Sur
<i>C. dewulfi</i> , Complejo obsoletus	Europa Norte

2.3. Clasificación taxonómica

El virus de Lengua Azul (VLA) pertenece al género *Orbivirus*, familia *Reoviridae*. Los virus miembros de esta familia poseen genomas compuestos por 9, 10, 11 o 12 segmentos de ARN lineal de cadena doble (Mertens *et al.*, 2004).

Cuadro 5. Principales agentes virales del género *Orbivirus* según la ICTV, 2018

Reino: *Riboviria*

Orden: No asignado

Familia: *Reoviridae*

Subfamilia: *Sedoreovirinae*

Género: *Orbivirus*

Especie: *Virus de Lengua azul*

African horse sickness virus

Changuinola virus

Chenuda virus

Chobar Gorge virus

Corriparta virus

Epizootic hemorrhagic disease virus

Equine encephalosis virus

Eubenangee virus

Great Island virus

Ieri virus

Lebombo virus

Orungo virus

Palyam virus

Peruvian horse sickness virus

3. PROTEÍNAS ESTRUCTURALES

La **VP2** es la proteína más externa de la cápside viral (Zhang *et al.*, 2010), esta se une a los receptores aún no conocidos y facilita la endocitosis del virión mediada por clatrina. Esta proteína es la menos conservada por tanto muta con facilidad debido a una alta presión de selección antigénica. Los extensos datos de secuenciación y el perfil inmunológico han demostrado que la VP2 es altamente variable, originando 27 serotipos distintos con dominancia geográfica denominado topotipos (Maan *et al.*, 2011).

La **VP5** se ubica en la parte externa del virión. El análisis estructural de esta proteína muestra que está formada por dominios similares a proteínas de fusión “clase I” de los virus con envolturas. Las interacciones con la VP2 en la cápside externa permiten que actúe como una molécula que modula su actividad por lo que la VP5 sufre un cambio conformacional ante la variación del pH, cambios que permiten la fusión de la membrana celular y la formación de un sincitio en un pH más de 5.5 (Forzan *et al.*, 2004).

La VP7 es la proteína principal y la más abundante de la parte interna del virion, el core, es la proteína inmunodominante y altamente conservada en todos los virus que integran el serogrupo orbivirus y todos los serotipos del VLA. Los anticuerpos detectados por la prueba de inmunodifusión son inducidos por la VP7 (Maclachlan *et al.*, 2014). La VP7 y VP3 forman un complejo y protegen al genoma del ataque por parte de la célula hospedera previniendo la activación del Interferon I y otros sensores, permite también la unión al receptor celular que al parecer es un aminoglicano presente en la membrana celular como ha sido observado en células de insectos (Maclachlan *et al.*, 2014).

4. REPLICACIÓN VIRAL

El primer evento en la replicación viral es la adherencia, es cuando el VLA a través del trímero VP3-VP7 la VP2 se adhiere al receptor presente en la célula blanco que son las células epiteliales, endoteliales de los pequeños vasos sanguíneos. Luego sigue la penetración del genoma viral al citoplasma celular para realizar el desnudamiento y dejar en libertad al genoma e iniciar el proceso de transcripción (Forzan *et al.*, 2007). Durante el proceso de la transcripción se generan los ARN mensajeros para ser traducidos en los ribosomas en las diferentes proteínas estructurales y no estructurales del virus (Mahy *et al.*, 2008). Finalmente ocurre el ensamblaje y salida del virus por exocitosis o lisis celular (Figura 1).

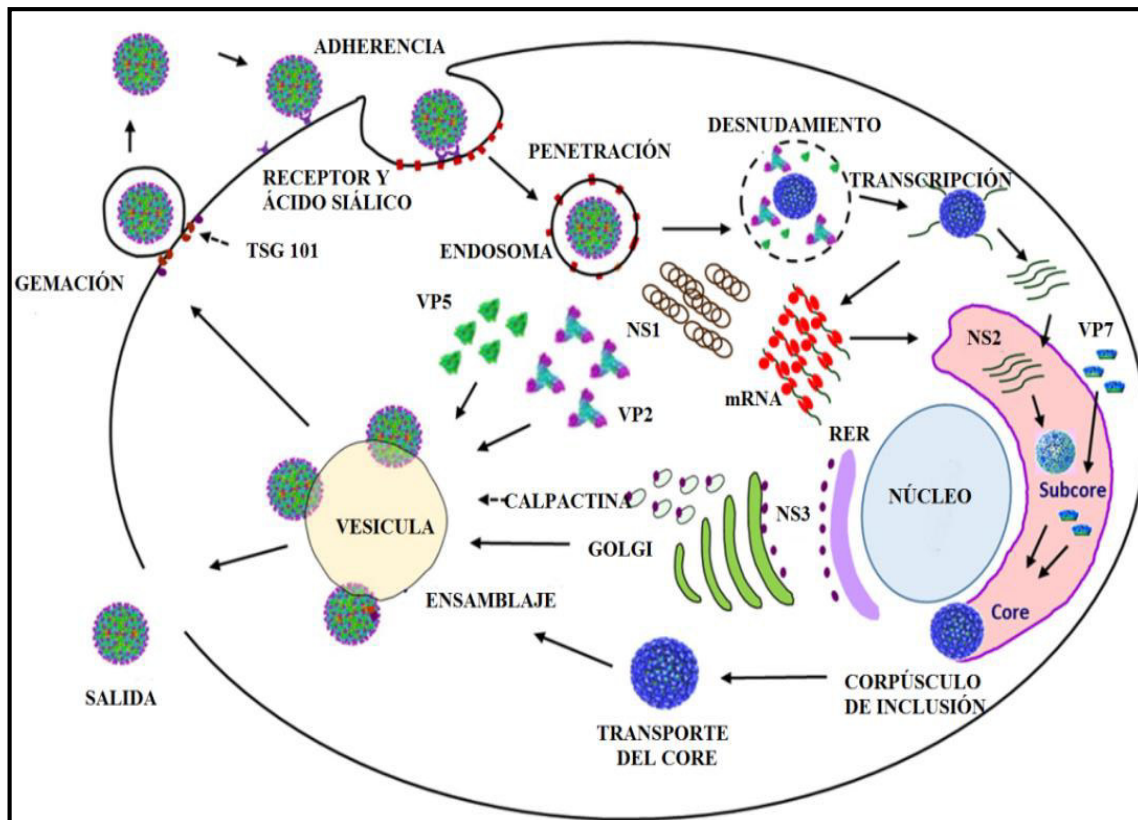


Figura 1. Ciclo de replicación del virus de lengua azul (Patel y Roy, 2014)

5. PATOGÉNESIS DE INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LENGUA AZUL

5.1 Transmisión

El VLA es un típico arbovirus por lo que requiere de un mosquito del género *Culicoides* spp competente para transmitir al virus durante su alimentación (Figura 2). En algunas ocasiones puede ser transmitido por semen (Parsonson, 1990). Tradicionalmente, el VLA se ha restringido a áreas entre las latitudes 40° N y 35° S, coincidiendo con la distribución de las especies de vectores de *Culicoides* competentes para la transmisión. Los *Culicoides* adultos pueden volar de 2 a 5 km en pocos días, lo que lleva a la propagación local de VLA. Sin embargo, la propagación a larga distancia también puede ocurrir como resultado de la dispersión de los insectos por el viento, particularmente sobre el agua (Eagles *et al.* 2014).

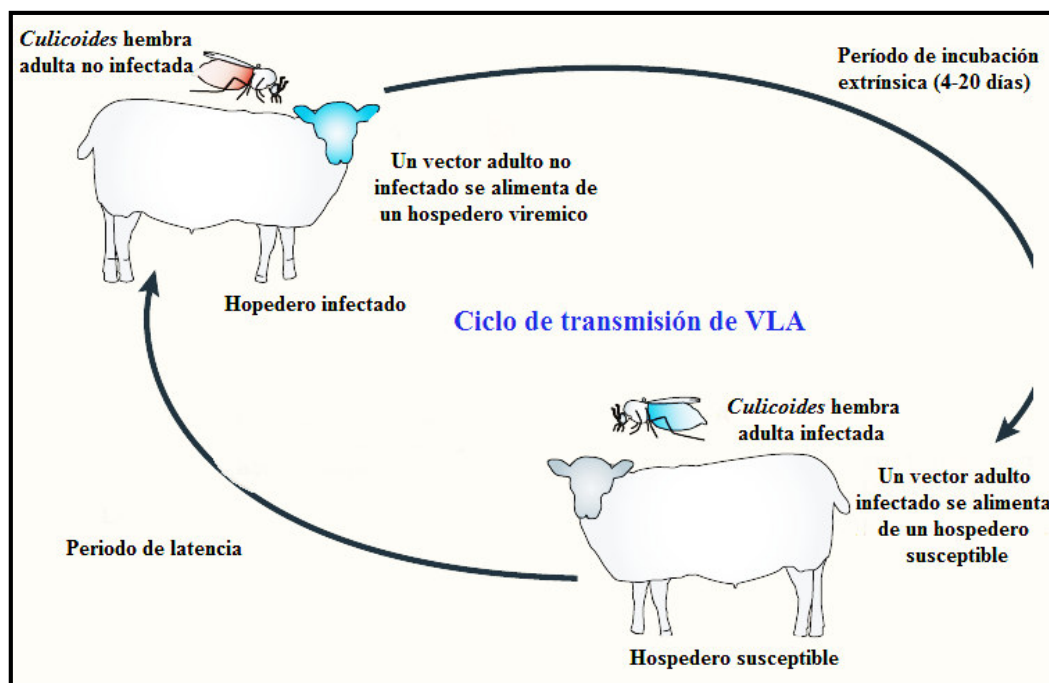
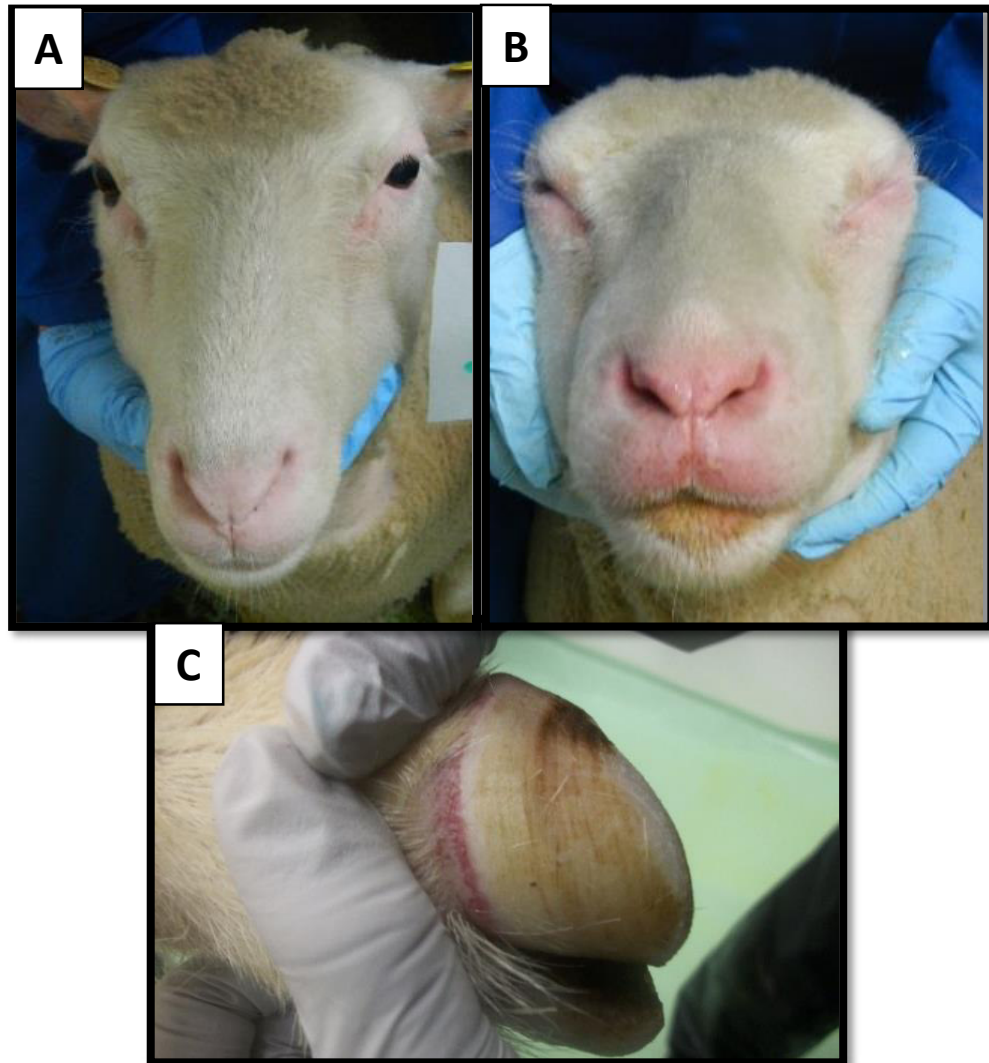


Figura 2. Ciclo de transmisión del VLA por mosquitos del género *Culicoides* (Modificado de Purse *et al.*, 2015)

5.2 Replicación en tejidos y signos clínicos

La patogénesis de la infección por VLA es similar en ovinos, bovinos y otros rumiantes, pero varía en severidad dependiendo del grado de virulencia de la cepa, especie y razas. Una vez que el virus ha sido inoculado en la piel por el mosquito el virus invade los nódulos linfáticos regionales donde se inicia la replicación (MacLachlan *et al.*, 2009). La viremia es detectada entre 3 a 5 días PI, y el virus es asociado a plaquetas y glóbulos rojos diseminado a diferentes tejidos replicándose en las células endoteliales, fagocitos mononucleares linfocitos y células Gama Delta. La cocirculación es por varias semanas en presencia de anticuerpos neutralizantes. La viremia puede ser menor en ovinos que en bovinos. Las ovejas y rumiantes silvestres pueden manifestar severos signos clínicos, ligeros y subclínicos. Los signos clínicos son fiebre, taquipnea, letargia, entre otros. Poco después del inicio de la pirexia, los ovinos suelen desarrollar signos adicionales, como hiperemia y congestión de la mucosa oral y nasal, lagrimeo, edema de la cara y los labios, secreción nasal acuosa y salivación excesiva. Ocasionalmente, las ovejas también mostraban signos de dificultad respiratoria y una inflamación de la lengua (Darpel *et al.*, 2012). En bovinos la viremia puede durar entre 35 a 60 días mientras que en ovinos dura entre 14 y 54 días, en la última etapa de la infección (8 - 14 días después de la infección), las ovejas desarrollarán típicamente una inflamación del borde coronario (MacLachlan *et al.*, 2008) (Figura 3)

Figura 3. Ovino sin lesiones (A), Ovino con edema en cara y labios (B), inflamación del borde coronario (C) (Cooke, 2017)



5.3 Lesiones patológicas

Los signos patológicos de la enfermedad incluyen lesiones, congestión y hemorragia de la mucosa de la cavidad oral y el estómago, edema y hemorragia de los ganglios linfáticos, pared de la arteria pulmonar y necrosis focal extensa del musculo esquelético (particularmente de la cara y el cuello) (MacLachlan *et al.*, 2008). La gravedad clínica en ovinos varía mucho según la cepa VLA específica, la raza ovina, la susceptibilidad individual y puede variar desde una enfermedad leve hasta la muerte (Darpel *et al.*, 2007). Aunque la mayoría de los ovinos que desarrollan una enfermedad clínica grave después de la infección por VLA mueren dentro de los 14 días, algunas

también pueden desarrollar manifestaciones crónicas, como una pérdida muscular grave, y muchos animales se vuelven anoréxicos (Darpel *et al.*, 2007, Williamson *et al.*, 2008). La infección en ovejas preñadas puede generar aborto, momificación fetal y el nacimiento de corderos débiles con posibles defectos congénitos (hidrocefalia, quistes cerebrales, displasia retiniana, las ovejas afectadas crónicamente pueden sucumbir a otras enfermedades como la neumonía bacteriana (Tweedle y Mellor, 2002; Saegerman *et al.*, 2011). Aunque la lesión vascular es claramente responsable de las manifestaciones clínicas y las lesiones del virus lengua azul, el mecanismo por el cual el virus las causas no está claro (Maclachlan *et al.*, 2009).

6. EPIDEMIOLOGÍA

Lengua Azul ha sido conocida en el continente africano por más de 100 años con carácter endémico en rumiantes silvestres. El primer reporte de la enfermedad fue en la provincia del Cabo en Sudáfrica en el siglo XVIII, tras la introducción del ovino Merino desde Europa. La enfermedad aguda en el ovino europeo tuvo diversos nombres como epizootia catarral, malaria catarral hasta que el 1905 fue denominado lengua azul por la cianosis de la lengua y cavidad bucal (Spreull, 1905).

La enfermedad se describió por primera vez fuera de África en 1943 durante un brote en ovinos en la Isla de Chipre. Desde entonces Lengua Azul fue ampliamente estudiado en el Instituto Veterinario Onderstepoort en Pretoria, Sudáfrica incluso preparó una vacuna en base al serotipo 4 del virus que fue utilizado por casi 40 años. El primer reconocimiento aparente de LA ocurrió en los Estados Unidos en 1948, pero VLA no se aisló hasta 1952 luego de un brote de la enfermedad en California (McKercher *et al.*, 1953; Price y Hardy, 1954).

Lengua Azul ha sido reconocido en todos los continentes con excepción de la Antártida (Maclachlan *et al.*, 2009). A raíz del brote de Lengua Azul en gran escala ocurrido en la península Ibérica a fines de 1950, la OIE la consideró en la Lista A por ser una enfermedad transfronteriza y causante de severas pérdidas económicas, aunque esta medida ocasionó más pérdidas económicas por la restricción del comercio internacional que por la misma enfermedad. Pero la reciente difusión de la enfermedad a lugares fuera de su ámbito geográfico como el norte de Europa, incluso Escandinavia, Sureste de los EEUU, América Latina, etc. reafirma la condición de ser una enfermedad de importancia para la ganadería en el presente siglo y se postula que el cambio climático ha contribuido a la expansión tradicional de VLA como consecuencia de su impacto en la distribución de especies de mosquitos competentes para vectores (Maclachlan *et al.*, 2019).

Hasta la fecha el virus de Lengua Azul posee 27 serotipos con diferentes grados de virulencia y que han evolucionado en una determinada región y son denominados topotipos y están distribuido en todos los continentes afectando a rumiantes domésticos incluyendo camélidos y rumiantes silvestres (Coetzee, *et al.*, 2012).

En países del Oeste Medio se ha detectado los serotipos 25, 26; en la Isla de Córsega el serotipo 27; en el continente europeo: 1, 2, 4, 8, 9, 10, 16, 20. En Norte América: 2, 10, 11, 13, 17 (Maclachlan y Mayo, 2013; Maclachlan *et al.*, 2019). Los serotipos detectados en América Central y el Caribe: 1, 3, 4, 6, 8, 11, 12, 14 y 17; mientras que en América del Sur los serotipos determinados mediante serología son el 4, 6, 12, 14, 17, 19 y 20 en Brasil (Grocock y Campbell, 1982); en Colombia el 12, 14 y 17 (Homan *et al.*, 1985), en Guyana el 14 y 17; y en Suriname el 6, 14 y 17 (Gumm *et al.*, 1984). Brasil y Argentina son los únicos países de América del Sur donde VLA ha sido aislado e identificado como serotipo 12 (Brasil) y 4 (Argentina) (Clavijo *et al.*, 2012; Legisa *et al.*, 2013).

Anticuerpos contra el virus de Lengua Azul se ha reportados en felinos silvestres posiblemente al alimentarse de un animal virémico también ha sido reportado el caso de una perra vacunada contra distemper adenovirus y parvovirus, 9 días después abortó y poco después murió y en sus tejidos se detectó el genoma del VLA. En un estudio realizado en perros domésticos en Morocco que fueron alimentados únicamente con alimento de origen industrial el 21% tuvieron anticuerpos contra el VLA sugiriendo que habrían sido infectados por mosquitos, estos resultados indican la capacidad del VLA de infectar a otras especies, aunque los autores sugieren que se requiere de más estudios al respecto (Oura y Harrak, 2010).

7. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

7.1 Virus de la enfermedad hemorrágica epizootica

El virus de la enfermedad hemorrágica epizootica (VEHE) es un miembro del género *Orbivirus*, familia *Reoviridae*, es un virus presente en las Américas y está estrechamente relacionado con el virus de lengua azul (VLA). La enfermedad hemorrágica epizootica (EHE) frecuentemente es fatal en venados de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) y con menos frecuencia, ocasiona una enfermedad similar a la lengua azul en el rumiante doméstico. Los mosquitos hematófagos de la especie *Culicoides* spp. actúan como vectores biológicos de VEHE entre rumiantes susceptibles. Los signos clínicos de esta enfermedad son pirexia, anorexia, disfagia, lesiones ulcerativas y necróticas de la mucosa oral, hiperemia y edema de la mucosa conjuntival, dolor de belfos y morro,

hiperemia de los pezones y la ubre, hemorragia, deshidratación y cojera (Temizel *et al.*, 2009). Actualmente ha sido detectado en bovinos con infección subclínica en Ecuador (Verdezoto *et al.*, 2018)

7.2 Virus de la fiebre aftosa

La fiebre aftosa es una enfermedad viral infecciosa y altamente contagiosa de animales domésticas y salvajes con pezuñas que causan una gran pérdida económica en el mundo. Pertenecen al género *Aftovirus* de la familia *Picornaviridae* (ICTV,2018). Las manifestaciones clínicas de la fiebre aftosa son laminitis, erosiones en banda coronaria, pirexia, erosiones vesiculares en el paladar duro, lengua, pezones y en zonas interdigitales, baja de producción de la leche y sobre todo es una enfermedad que restringe el comercio internacional de animales en pie y germoplasma y subproductos de origen bovino. El Perú ha sido declarado libre de la fiebre aftosa sin vacunación por el OIE. (MINAGRI,2018)

7.3 Fotosensibilización

La fotosensibilización es una reacción hiperactiva de la piel frente a la luz ultravioleta, debido a la presencia de sustancias fototóxicas o fotoactivas (Puschner *et al.*, 2016). Existen tres tipos de fotosensibilización: Tipo I (primaria), Tipo II (congénita) y Tipo III (hepatógena). La manifestación primaria surge debido a la ingestión de sustancias fotoactivas exógenas contenidas en las plantas (Haargis y Ginn, 2007). La congénita es rara en animales domésticos, y está asociada con el metabolismo aberrante de las porfirinas, lo que resulta en la acumulación de sustancias fotoactivas dentro de la sangre y los tejidos. La fotosensibilización hepatógena se produce debido a la incapacidad del hígado para excretar la filioeritrina, derivada del catabolismo de la clorofila (Haargis y Ginn, 2007), de modo que se acumula llegando a los capilares dérmicos, permitiendo que la luz ultravioleta cause lesiones en la piel (Smith, 2000; Scheie *et al.*, 2002). Las lesiones por fotosensibilización ocurren en la región de la cabeza debido a la ausencia de pigmentación y lana, por tanto, mayor incidencia de rayos ultravioletas, observándose congestión y eritema de la cara, morro, párpados y orejas; seguido de la formación de edemas y pequeñas vesículas que liberan una secreción serosa. Además, es posible encontrar problemas oculares como edema palpebral, congestión y edema de conjuntivas, epifora y fotofobia (Choez y Galarza,2018).

7.4 Estomatitis vesicular

La estomatitis vesicular es una enfermedad del ganado causada por algunos miembros del género *Vesiculovirus* y Familia *Rhabdoviridae* (ICTV,2018). La enfermedad clínica se presenta

como pequeñas ampollas en la mucosa oral y ulceraciones de la lengua, pezuñas y pezones, produce una pérdida sustancial de productividad; es clínicamente indistinguible de la fiebre aftosa por lo que es incluida dentro de las enfermedades vesiculares (Rozo-Lopez *et al.*, 2018).

La estomatitis vesicular ocurre estacionalmente cada año en el sureste de EE. UU., El sur de México, en toda América Central y en el Norte de Sudamérica, y emerge en áreas tropicales donde ocasiona brotes esporádicos en climas más fríos durante los meses de verano. Los virus son transmitidos por artrópodos y contacto directo, pero en raras ocasiones los mamíferos presentan lesiones (Letchworth *et al.*, 1999).

8. INMUNIDAD

8.1 La inmunidad innata

La inmunidad innata es la primera barrera de defensa de los mamíferos frente a infecciones virales y un paso importante para el desarrollo de la inmunidad adquirida tanto humoral como celular. La infección natural por el VLA, luego que el vector deposita al virus debajo de la piel, el virus rápidamente infecta a las células dendríticas del nódulo linfático presente en la dermis donde inicia su replicación pero también la concurrencia de abundante células dendríticas, macrófagos, células endoteliales y linfocitos que son blancos del virus iniciándose la salida de abundantes interleucinas IL1, IL6, IL12 y citoquinas pro-inflamatorias así como moléculas coestimulantes que promueven la proliferación de Linfocitos CD4, CD8 anti VLA y factor de necrosis tumoral. La progenie del VLA luego drena al nódulo linfático regional diseminándose a diferentes células dendríticas, macrófagos, células Gama Delta iniciándose así la respuesta inmune adaptativa (Schwartz *et al.*, 2008; Maclachlan y Mayo, 2013)

8.2 Inmunidad humoral

Los animales infectados con el virus de lengua azul desarrollan respuesta inmune humoral y celular. Las proteínas VP3 y VP7 presente en el core son antígenos inmunodominantes y genera anticuerpos comunes a todos los miembros del serogrupo del VLA que son detectados por pruebas serológicas como ELISA de competición (Maclachlan y Mayo, 2013) mientras que los anticuerpos neutralizantes son inducidos por la VP2. Estos anticuerpos brindan protección solo contra cepas de VLA que pertenecen al mismo serotipo, no contra cepas de serotipos heterólogos (Stott y Osburn, 1990).

La VP2 es el principal determinante de la especificidad inmunitaria de serotipo y es el antígeno primario que induce los anticuerpos neutralizantes (Stott y Osburn, 1990). La segunda proteína de la cápside externa VP5 parece tener un efecto sinérgico en el desarrollo de una respuesta de anticuerpos neutralizante específica del serotipo, posiblemente a través de interacciones físicas con VP2 (Mertens *et al.*, 1989). Debido a que las células T auxiliares son esenciales para el desarrollo de células B productoras de anticuerpos neutralizantes, es probable que VP2 contenga epítomos reconocidos tanto por los anticuerpos neutralizantes como por las células T auxiliares (MacLachlan, 1994).

8.3 Inmunidad celular

La inmunidad celular es muy importante en infecciones virales porque limitan la difusión viral durante la replicación del virus en etapas iniciales de la infección a través de la lisis de las células infectadas. Los linfocitos Th citotóxicos CD8+ han sido identificados en ovejas y ratones infectados con el VLA su rol en la eliminación de la infección por el VLA no está bien aclarado. Las proteínas NS1 y VP2 son las que estimulan la respuesta inmune celular contra el VLA (Calvo-Pinilla *et al.*, 2012). Estudios experimentales en ratones y ovejas demostraron una actividad máxima de 7 a 21 días post infección (Jeggo *et al.*, 1986).

9. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

9.1 Inmunodifusión en gel de agar (IDGA)

La prueba IDGA se basa en la migración radial del complejo antígeno-anticuerpo (Ag-Ab) a través del gel de agar. Durante muchos años, esta técnica ha sido la más utilizada para detectar anticuerpos contra VLA. Es una prueba de baja sensibilidad y detecta anticuerpos contra los serogrupos del VLA. Por tanto, los sueros positivos por IDGA deben ser probados nuevamente utilizando una prueba específica para el VLA. La baja especificidad de la técnica de IDGA y la subjetividad durante la lectura de los resultados ha promovido el desarrollo de procedimientos basados en ELISA para la detección específica de anticuerpos anti-VLA (Gorman, 1986; Ristow *et al.*, 1988).

9.2 Ensayo Por Inmunoadsorción Ligado A Enzimas (ELISA)

Recientemente, el ELISA competitivo basado en anticuerpos monoclonales (ELISAc) es utilizada como prueba altamente específica y sensible para la detección de anticuerpos contra la proteína VP7 del VLA (Shringi y Shringi, 2005). Esta prueba mide la competencia entre un

anticuerpo monoclonal específico contra la proteína del core de VLA. Por tal razón, el ELISAc se recomienda como la prueba oficial para el monitoreo serológico de anticuerpos contra VLA según lo establecido por la OIE (Shringi y Shringi, 2005), debido a su sensibilidad de 97.6 y especificidad de 98.0% (Chand *et al.*, 2017)

9.3 Neutralización viral

La prueba de neutralización viral detecta anticuerpos neutralizantes específicos contra una cepa del VLA. Estos anticuerpos son inducidos por la VP2, VP5 que son proteínas externas del virus. El “gold standar” para la serotipificación de VLA es la prueba de neutralización, la prueba requiere de una cepa de referencia, antiseros monoespecíficos de referencia para cada uno de los serotipos presentes en una región y un sistema de cultivos celulares como las BHK-21, Vero (OIE 2018).

10.CONTROL

El control del virus de lengua azul radica en la rotación de ovinos a lugares menos húmedos, utilización de mallas ventanales en una granja intensiva, el uso de repelentes e insecticidas y el monitoreo de insectos vectores. También se puede usar la inmunización profiláctica a base de vacunas vivas o atenuadas y vacunas inactivadas de serotipo específico. Finalmente, el monitoreo de ovinos mediante exámenes clínicos, pruebas serológicas y virológicas es fundamental (Mohammed,2014).

10.1 Vacunas vivas atenuadas

Las vacunas vivas atenuadas fueron hasta hace poco las únicas vacunas disponibles comercialmente (Caporale y Giovannini, 2010). Una dosis de esta vacuna es suficiente para brindar una buena protección durante al menos un año, pero presentan una protección deficiente contra la infección de un serotipo VLA heterólogo (Tweedle y Mellor, 2002). Debido a los signos clínicos que pueden ocasionar estas vacunas se recomienda vacunar a las ovejas de 9 a 15 semanas antes del apareamiento y a los carneros después del período de apareamiento (Bhanuprakash *et al.*, 2009), pero al menos 6 semanas antes del comienzo del período siguiente (Savini *et al.*, 2008). El virus de la vacuna atenuada puede producir viremia que dura más de dos semanas en ovinos vacunados, también puede ser adquirido por los *Culicoides* spp y ocasionar procesos de recombinación con cepas de campo. Pero aun así la vacuna atenuada es la mejor estrategia para la prevención de lengua azul (Veronesi *et al.*, 2005; McVey y MacLachlan, 2015).

10.2 Vacunas inactivadas

Las vacunas inactivadas pueden inducir una inmunidad confiable y protectora que, para un efecto duradero, requiere de una revacunación (Savini *et al.*, 2008, 2009). Las vacunas bien inactivadas pueden prevenir el desarrollo de la enfermedad clínica en huéspedes susceptibles y prevenir el desarrollo de la viremia, después de la infección con un serotipo VLA homólogo (Bhanuprakash *et al.*, 2009).

El proceso de inactivación puede reducir la inmunogenicidad por lo que muchas veces se requiere varias dosis para inducir una buena respuesta inmune (Slifka y Amanna, 2014).

10.3 Vacunas de nueva generación

Los nuevos diseños de vacunas incluyen vacunas recombinantes vectorizadas, vacunas infecciosas deshabilitadas de ciclo único y vacunas de subunidades y partículas similares al virus. El objetivo de estas vacunas de nueva generación es evitar las deficiencias inherentes de las vacunas inactivadas y vacunas de virus vivo modificado existentes, y facilitar la distinción de los animales vacunados de animales infectados naturalmente (DIVA). Un objetivo adicional aún no realizado es la creación de vacunas polivalentes que induzcan una protección efectiva contra múltiples serotipos de virus, lo cual es particularmente importante ya que más de un serotipo VLA circula en todas las regiones del mundo donde VLA es endémicamente estable (a largo plazo) (Mohammed, 2014).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de la toma de muestra y del estudio serológico

La obtención de las muestras sanguíneas se realizó en abril y mayo de 2017 procedentes de ovinos del grupo A ubicados en la provincia de Jauja, Junín; así también se obtuvieron muestras sanguíneas de ovinos del grupo B de cuatro distritos de la provincia de Chanchamayo, Junín: Perené, San Luis de Shauro, San Ramón y Pichanaki ubicados a 600 msnm (Figura 4).

El análisis serológico se realizó en la Sección de Virología del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM).

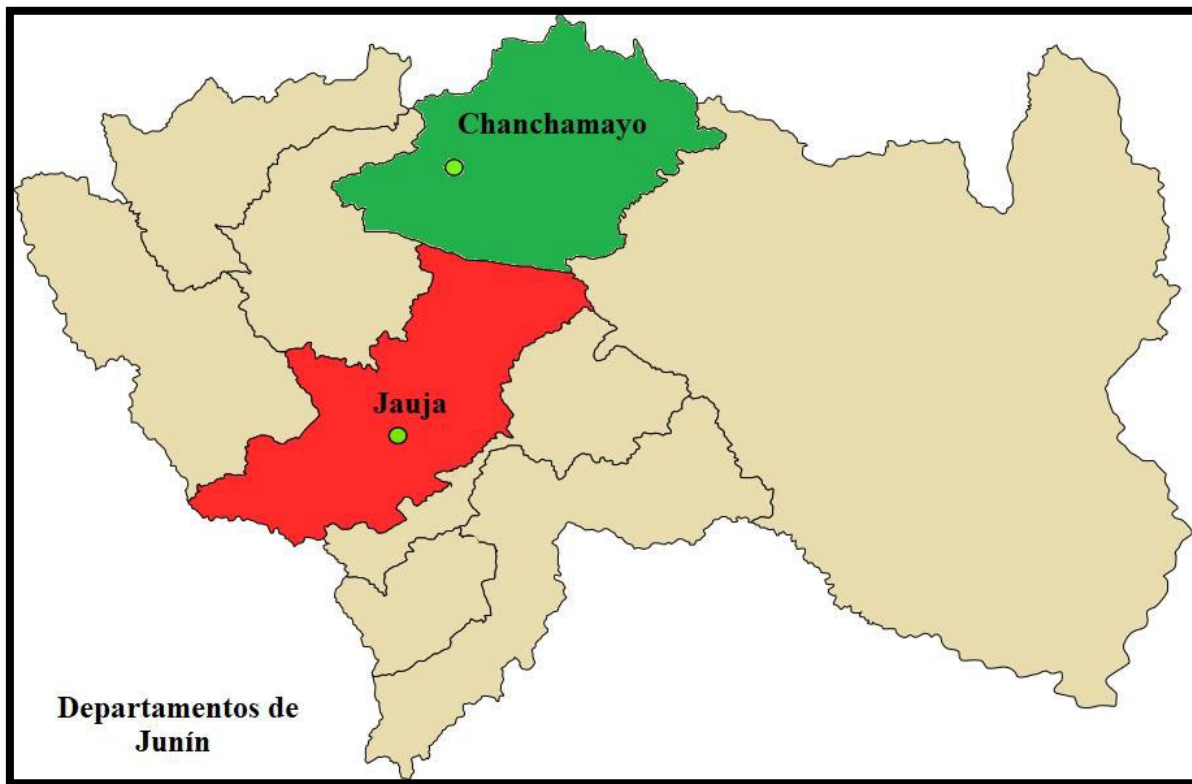


Fig. 4 Mapa de las provincias de Junín seleccionadas para el muestreo sanguíneo de ovinos (Jauja y Chanchamayo)

3.2 Obtención de muestras

Se colectó 306 muestras de sangre de ovinos machos de una población de 1500 animales de raza Junín y 82 muestras de ovino de raza Blackbelly de ambos sexos y de distintas edades (4 meses a 8 años) de una población de 436 ovinos pertenecientes a pequeños criadores de los cuatro distritos de la provincia de Chanchamayo, Junín (INEI 2012), considerando una prevalencia referencial del 50% (Navarro *et al.*, 2019) con intervalo de confianza de 95% y un porcentaje de error del 5%, según la fórmula de tamaño muestral de poblaciones finitas (Daniel, 1996).

$$n = \frac{N \cdot Z^2 \alpha \cdot p \cdot q}{(N-1) \cdot d^2 + Z^2 \alpha \cdot p \cdot q}$$

Donde:

N= Tamaño de población

$Z^2 \alpha$ = (para un nivel de confianza del 95%)

p = proporción esperada 0.5 (cuando se desconoce la prevalencia)

$q = 1-p$

d = precisión 0.05

En base a la fórmula se determinó la colecta de 306 muestras de sangre de ovino de raza Junín y 205 muestras de ovinos de pelo raza Blackbelly sin embargo, en el caso de las muestras de ovinos de pelo solo se colectó 82 muestras de los 205 requeridas debido a problemas logísticos y de clima. Todos los ovinos de pelo muestreados entre machos y hembra fueron nacidos en el lugar siendo estos utilizados principalmente para el consumo familiar (Cuadro 6).

3.3 Colecta y transporte de muestras de sangre de ovinos

Antes de iniciar el muestreo se obtuvo la autorización de la Gerencia de la Unidad de producción y de los dueños de los pequeños hatos. Las muestras de sangre fueron obtenidas mediante punción de la vena cefálica o yugular utilizando tubos al vacío sin anticoagulante y transportadas a la Estación IVITA, el Mantaro para la centrifugación a 800g por 5 minutos y envasados en viales con gel refrigerante para su conservación antes de ser transportados a la Sección de Virología y conservados a -20 °C hasta su procesamiento.

Cuadro 6. Número de ovinos procedentes de las provincias de Jauja y Chanchamayo, Junín, 2017

Provincia	Población de ovinos	Distritos	N° Ovinos muestreados
Jauja (3800 msnm)	1500	Canchayllo	306
Chanchamayo (600 msnm)	436	Perené	56
		San Luis de Shauro	13
		San Ramón	8
		Pichanaqui	5
Total	1936	5	388

3.4 Detección de anticuerpos contra el virus de Lengua azul

Los análisis serológicos de las muestras de suero de ambas procedencias fueron realizados mediante la prueba de ELISA competitiva (Bluetongue Virus antibody Test Kit cELISA v2) (VMRD, USA) siguiendo las especificaciones del fabricante, brevemente descrita a continuación:

- 1.- Se descongelaron las muestras de suero y se sacaron los reactivos a medio ambiente
 - 2.- Se añadió 30 µL de los controles y muestras de suero en los pocillos apropiados de la placa de predilución. Utilizando diferentes puntas para cada control y muestra. Seguidamente se adicionó 30 µL del conjugado en los pocillos seleccionados de la placa de predilución empleando diferentes puntas o tips para cada pocillo.
 - 3.- Se transfirió 50 µL de la dilución antes mencionada en cada pocillo apropiado de la placa con antígeno.
 - 4.- Se cubrió la microplaca con papel parafina y se colocó en el agitador para microplacas. Para su incubación por 30 minutos a temperatura ambiente (23±2°C).
 - 5.- Se lavó tres veces la microplaca con aproximadamente 300 µL del buffer de lavado.
 - 6.- Se añadió 50 µL de la solución sustrato a cada pocillo y se volvió a incubar por 10 minutos a temperatura ambiente (23±2°C), evitando la luz directa.
 - 7.- Al cabo de los 10 minutos se agregó 50 µL de solución de detención.
 - 8.- Se hizo la lectura en el espectrofotómetro a 650 nm.
 - 9.- Se calculó el porcentaje de inhibición (%I) para cada muestra y para los controles:
- $$\% I = 100[1 - (\text{DO muestra} / \text{DO control negativo})]$$
- 10.- Las muestras fueron consideradas positivas si el % de inhibición fue $\geq 60\%$, y negativas si este % de inhibición fue $< 60\%$.

3.5 Análisis de información

La frecuencia de VLA fue estimada mediante la fórmula (Ahlbom y Norell, 1990), según la procedencia.

$$\text{Frecuencia} = \frac{\text{n}^\circ \text{ muestras positivas a anticuerpos contra VLA} \times 100\%}{\text{Total de muestras analizadas}}$$

IV. RESULTADOS

El 100% de las muestras de suero de los ovinos de raza Junín resultaron negativas a anticuerpos contra el virus de Lengua Azul, mientras que el 56.1% de las muestras de los ovinos de pelo tuvieron anticuerpos contra el virus (Cuadro 7). En los Cuadros 8 y 9 se presentan los resultados según sexo y grupos etarios.

Cuadro 7. Detección de anticuerpos contra el virus de lengua azul (VLA) en ovinos de raza Junín y pelo mediante la prueba de ELISA de competición

Provincia	Distrito	N°	Positivos	Negativos	Frecuencia (%)
Chanchamayo 600 msnm	Perené	56	33	23	58.9
	San Luis De Shauro	13	6	7	46.2
	San Ramón	8	4	4	50.0
	Pichanaki	5	3	2	60.0
TOTAL		82	46	36	56.1

Cuadro 8. Detección de anticuerpos contra el virus de Lengua Azul del distrito de Chanchamayo según sexo

Sexo	N°	Ovinos seropositivos	%
Macho	34	15	44.1
Hembra	48	29	60.4
Total	82	44	53.6

Cuadro 9. Detección de anticuerpos contra el virus de Lengua Azul del distrito de Chanchamayo según edad

Edad (años)	N°	Ovinos Seropositivos	%
<1	26	14	(53.8)
>1 a 2	16	7	(43.8)
>2 a 3	23	15	(65.2)
>3	17	8	(47.1)
Total	82	44	(53.7)

V. DISCUSIÓN

El 100% de las muestras de suero de los ovinos de la raza Junín resultaron negativas a anticuerpos contra el virus de Lengua Azul (VLA) indicando que los ovinos muestreados no fueron expuestos al virus. Posiblemente la altitud y el clima constituyen barreras para la incursión desde el trópico de los mosquitos transmisores del VLA. Existen mosquitos hematófagos en la zona, pero sin duda, no son competentes para la transmisión del VLA (Rosadio, 2019, Lima, comunicación personal). Existen más de 1500 especies del género *Culicoides*, pero aproximadamente 30 especies son consideradas competentes para transmitir el virus (Purse *et al.*, 2005). Son escasas las informaciones sobre seropositividad de ovino u otra especie animal criados en otras zonas andinas, salvo estudio de Rivera *et al.*, (1987) quienes reportaron un 21% de seropositividad al VLA en alpacas de Puno utilizando la prueba de inmunodifusión que detecta anticuerpos no solo contra el VLA, sino también contra el virus de Enfermedad Hemorrágica Epizootica, mientras que en el presente estudio se ha utilizado la prueba de ELISA específica para detectar anticuerpos contra el VLA. Interesantes estudios realizados en ovinos y yaks de la meseta del Tibet donde el clima es frío y con bajo porcentaje de oxígeno el 17.3 y 13.3% de ovinos y yaks respectivamente tuvieron anticuerpos específicos contra el VLA, los autores mencionan que el *Culicoides* spp., vector de esta enfermedad, tiene una dinámica estacional siendo más activos en las estaciones cálidas (Ma *et al.*, 2017). Esta situación podría darse también en el país ante el cambio climático ya que por el flanco oriental los andes limitan con las zonas subtropicales que poseen las condiciones favorables para la existencia de los mosquitos hematófagos (UNESCO, 2009).

El 56.1% (46/82) de las muestras de los ovinos de pelo, tuvieron anticuerpos contra el VLA. Los anticuerpos detectados evidencian la exposición al virus por la picadura del mosquito transmisor, más no enfermedad clínica, indicando que la infección por el VLA es enzoótico en el trópico y subtropical con climas cálidos con abundante lluvia, humedad, flora y fauna, etc., que caracterizan al ámbito geográfico comprendido entre 40° Latitud Norte y 35 ° Latitud Sur y donde parte de los EEUU, América Central y América del Sur están comprendidos en este espacio geográfico (Purse *et al.*, 2005). El porcentaje de seropositividad detectado en el presente estudio en los ovinos de pelo es similar al resultado obtenido por Navarro *et al.*, (2019) quienes reportaron un 50% (23/46) de seropositivos al VLA en ovinos de pelo clínicamente sanos en Pucallpa, Ucayali. Ucayali es trópico con factores favorables para la vida de los *Culicoides* spp., y por tanto, la continua exposición de los animales al virus, como lo refiere Noaman y Arzani (2016). Otro estudio en huanganas (*Tayassu pecari*) de Madre de Dios el 7.5% de ellos tuvieron anticuerpos específicos al VLA (Rivera *et al.*, 2013), esta diferencia en cuanto a la seropositividad respecto a nuestros resultados podría deberse a factores no identificados por tratarse de una especie animal silvestre.

Estudios de seroprevalencia del VLA han sido y están siendo realizados en ovinos, caprinos y bovinos en muchos países del mundo (Legisa *et al.*, 2013). Estos resultados indican solo exposición al virus más no enfermedad clínica. Es así que en Brasil encontraron animales seropositivos que van desde 0.4 a más de 50% (Souza *et al.*, 2010), igualmente en ovinos de Argentina de la provincia de Corrientes hubo una seroconversión del 95% (Clavijo *et al.*, 2012; Legisa *et al.*, 2013). En bovinos clínicamente sanos del Ecuador y en algunas áreas de Venezuela se ha detectado seroprevalencias de 98.9% y 94.7% respectivamente (Verdezoto *et al.*, 2016).

En América Latina solo se han reportado la enfermedad clínica de Lengua Azul en dos cérvidos (*Mazama gouazoubira*) y en un venado (*Blastocerus dichotomus*) en 2 zoológicos de Rio de Janeiro, Brasil y en ocho ovinos y una cabra en el estado de Paraná y en 2017 hubo severos brotes en ovinos del Estado de Rio Grande do Sul causado por el serotipo 17 (Bianchi *et al.*, 2017). Hasta la fecha los países donde se ha logrado aislar al VLA son Brasil y Argentina (Lager, 2004). En Ecuador se han reportado los serotipos 9, 13 y 18 del VLA (Verdezoto *et al.*, 2018). En Perú se ha detectado el segmento 7 del VLA en muestras sanguíneas de ovinos seropositivos y en un pool de *Culicoides insignis* capturados en las cercanías del corral de las ovejas seropositivas al VLA (Navarro *et al.*, 2018; Navarro *et al.*, 2019). Los recientes estudios realizados en ovinos en el Perú indican que el VLA está presente en animales domésticos y silvestres del trópico pero sin la ocurrencia de la enfermedad clínica. Sin embargo, se considera importante realizar un muestreo en todas las unidades de producción tanto de grandes, medianas y pequeños productores de ovinos

criados en altitudes que van desde 2500 a 4400 msnm como una línea de base de información y hacer continuos monitoreos como vigilancia epidemiológica del VLA considerada una enfermedad emergente ante la posibilidad de migración de los mosquitos transmisores fuera de su ámbito geográfico debido al cambio climático y calentamiento global como lo advierten numerosos autores (Brugger y Rubel 2013; Guichard *et al.* 2014).

Finalmente, en el país los animales de producción (rumiantes mayores y menores, camélidos sudamericanos) en cuanto al volumen se crían en las zonas altoandinas, que posee múltiples microclimas como lo señala la UNESCO (2009), se sabe que el cambio climático favorece a la suma de factores que condicionan la ocurrencia de enfermedades emergentes que podrían afectar la salud del hombre y de los animales, por ello se recomienda continuar con los estudios de prevalencia del VLA en ovinos, bovinos y cabras en todas las regiones del país durante las cuatro estaciones del año uniendo esfuerzos con SENASA y otras instituciones para levantar un mapa epidemiológico de Lengua Azul y continuar con estudios de identificación de las especies de mosquitos *Culicoides* spp. como posibles transmisores del virus, así como identificar los serotipos del VLA presentes en el Perú.

VI. CONCLUSIONES

Se concluye que no se detectaron ovinos seropositivos al virus de Lengua azul criados a una altitud de 3800msnm, mientras que ovinos situados a 600 msnm presentaron una alta frecuencia (56,1%) de anticuerpos contra el virus de Lengua azul debido a la posible presencia del vector competente para su transmisión.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. Ahlbom A, Norell S. 1990. Introduction to modern epidemiology. Epidemiology Resources. 145 p.
2. Atto J. 2007. Importancia de los ovinos tropicales introducidos al país: Características Productivas y Reproductivas. En: XX Reunion ALPA, XXX Reunion APPA-Cusco-Perú.
3. Bett B, Said MY, Sang R, Bukachi S, Wanyoike S, Kifugo SC, Otieno F, et al. 2017. Effects of flood irrigation on the risk of selected zoonotic pathogens in an arid and semi-arid area in the eastern Kenya. Plos One 12: e0172626.
4. Bianchi RM, Panziera W, Faccin TC, de Almeida GL, Cargnelutti JF, Flores EF, Kommers GD, et al. 2017. Clinical, pathological and epidemiological aspects of outbreaks of bluetongue disease in sheep in the central region of Rio Grande do Sul. Pesqui Vet Brasil 37: 1443-1452.

5. Bitew M, Nandi S, Ravishankar C, Somvanshi R. 2013. Serological and molecular evidence of bluetongue in sheep and goats in Uttar Pradesh, India. *Afr J Biotechnol* 12: 2699-2705.
6. Bhanuprakash V, Indrani BK, Hosamani M, Balamurugan V, Singh RK. 2009. Bluetongue vaccines: the past, present and future. *Expert Rev Vaccines* 8: 191-204.
7. Brugger K, Rubel F. 2013. Bluetongue disease risk assessment based on observed and projected *Culicoides obsoletus* spp. vector densities. *Plos One* 8: e60330.
8. Calvo-Pinilla E, Navasa N, Anguita J, Ortego J. 2012. Multiserotype protection elicited by a combinational prime-boost vaccination strategy against bluetongue virus. *PLos One* 7: e34735.
9. Caporale V, Giovannini A. 2010. Bluetongue control strategy, including recourse to vaccine: a critical review. *Rev Sci Tech OIE* 29: 573-591.
10. Coetzee P, Stokstad M, Venter EH, Myrmel M, Van Vuuren M. 2012. Bluetongue: a historical and epidemiological perspective with the emphasis on South Africa. *Virol J* 13: 198.
11. Cooke, L. 2017. Understanding the effects of *Culicoides* saliva on Bluetongue virus infection of bovine monocytes. Tesis doctoral. UK : University of Surrey.322p
12. Clavijo A, Sepulveda L, Riva J, Pessoa Silva M, Tailor Ruthes A, Lopez JW. 2012. Isolation of bluetongue virus serotype 12 from an outbreak of the disease in South America. *Vet Rec* 151: 201-302.
13. Chand K, Biswas SK, Pandey AB, Saxena A, Tewari N, Mondal B. 2017. A competitive ELISA for detection of group specific antibody to bluetongue virus using anti-core antibody. *Biologicals* 46: 168-171.

14. Choez K, Galarza P. 2018. Brote de jacapo en ovinos en Junín, Perú. *Rev Inv Vet Peru* 29: 1060-1064.
15. Daniel D. 1996. Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud. 5° ed. México: Limusa. 480 p.
16. Darpel KE, Batten CA, Veronesi E, Shaw AE, Anthony S, Bachanek-Bankowska K, Kgosana L, et al. 2007. Clinical signs and pathology shown by British sheep and cattle infected with bluetongue virus serotype 8 derived from the 2006 outbreak in northern Europe. *Vet Rec* 161: 253-261.
17. Darpel KE, Monaghan P, Simpson J, Anthony SJ, Veronesi E, Brooks HW, Elliot H, et al. 2012. Involvement of the skin during bluetongue virus infection and replication in the ruminant host. *Vet Res* 43: 40.
18. Eagles D, Melville L, Weir R, Davis S, Bellis G, Zalucki MP, Walker PJ, et al. 2014. Long-distance aerial dispersal modelling of *Culicoides* biting midges: case studies of incursions into Australia. *BMC Vet Res* 10: 135.
19. Felipe-Bauer ML, Cáceres AG, Santos da Silva C, Valderrama-Bazan W, Gonzales-Perez A, Martins J. 2008. New records of *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) from Peruvian Amazonian region. *Biota Neotropica* 8(2): 33-38.
20. Forzan M, Wirblich C, Roy P. 2004. A capsid protein of nonenveloped bluetongue virus exhibits membrane fusion activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 2100-2105.
21. Forzan M, Marsh M, Roy P. 2007. Bluetongue virus entry into cells. *J Virol* 81: 4819-4827.
22. Gómez-Brunet A, Santiago-Moreno J, Toledano-Díaz A, López-Sebastiá A. 2011. Reproductive seasonality and its control in Spanish sheep and goats. *Tropical and subtropical Agroecosystems* 15(Suppl1): 47-70.

23. Gorman BM. 1986. Evolutionary relationships among orbivirus. *Rev Sci Tech OIE* 5: 323-332.
24. Grocock CM, Campbell CH. 1982. Isolation of an exotic serotype of bluetongue virus from imported cattle in quarantine. *Can J Comp Med* 46: 160-164.
25. Guichard S, Guis H, Tran A, Garros C, Balenghien T, Kriticos DJ. 2014. Worldwide niche and future potential distribution of *Culicoides imicola*, a major vector of Bluetongue and African horse sickness viruses. *Plos One* 9: e112491.
26. Gumm ID, Taylor WP, Roach CJ, Alexander FC, Greiner EC, Gibbs EP. 1984. Serological survey of ruminants in some Caribbean and South American countries for type-specific antibody to bluetongue and epizootic haemorrhagic disease viruses. *Vet Rec* 114: 635-638.
27. Haargis AM, Ginn PE. 2007. The integument. In: McGavin MM, Zachary JF (eds). *Pathologic basis of veterinary disease*. 4th ed. St. Louis, USA: Elsevier. p 1107-1261.
28. Homan EJ, Taylor WP, Lorbacher de Ruiz H, Yuill TM. 1985. Bluetongue virus and epizootic haemorrhagic disease of deer virus serotypes in northern Colombian cattle. *J Hyg* 95: 165-172.
29. [ICTV] International Committee on Taxonomy of Viruses. 2018. Taxonomy history: Bluetongue virus. [Internet]. [junio,2019] Disponible en: https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=201854879
30. [INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2012. IV Censo Nacional Agropecuario 2012.. [Internet] [Nov,2019]. Disponible en: <http://proyectos.inei.gob.pe/web/Doc%20mentosPublicos/ResultadosFinalesIVCENAGRO.pdf>
31. Jeggo MH, Wardley RC, Brownlie J, Corteyn AH. 1986. Serial inoculation of sheep with two bluetongue virus types. *Res Vet Sci* 40: 386-392.

32. Lager IA. 2004. Bluetongue virus in South America: overview of viruses, vectors, surveillance and unique features. *Vet Ital* 40: 89-93.
33. Legisa D, Gonzalez F, De Stefano G, Pereda A, Dus Santos MJ, 2013. Phylogenetic analysis of bluetongue virus serotype 4 field isolates from Argentina. *J Gen Virol* 94: 652-662.
34. Letchworth GJ, Rodriguez LL, Del Cbarrera J. 1999. Vesicular stomatitis. *Vet J* 157: 239-260.
35. Ma JG, Zhang XX, Zheng WB, Xu YT, Zhu XQ, Hu GX, Zhou DH. 2017. Seroprevalence and risk factors of bluetongue virus infection in Tibetan sheep and yaks in Tibetan Plateau, China. *Biomed Res Int* 2017: 5139703.
36. Maan S, Maan NS, Nomikou K, Veronesi E, Bachanek-Bankowska K, Belaganahalli MN, Attoui H, et al. 2011. Complete genome characterisation of a novel 26th bluetongue virus serotype from Kuwait. *Plos One* 6: e26147.
37. MacLachlan NJ. 1994. The pathogenesis and immunology of bluetongue virus infection of ruminants. *Comp Immunol Microb* 17: 197-206.
38. MacLachlan NJ, Crafford JE, Vernau W, Gardner IA, Goddard A, Guthrie AJ, Venter EH. 2008. Experimental reproduction of severe bluetongue in sheep. *Vet Pathol* 45: 310-315
39. MacLachlan NJ, Drew CP, Darpe KE, Worwa G. 2009. The pathology and pathogenesis of bluetongue. *J Comp Pathol* 141: 1-16.
40. MacLachlan NJ, Mayo CE. 2013. Potential strategies for control of bluetongue, a globally emerging *Culicoides* transmitted viral disease of ruminant livestock and wildlife. *Antivir Res* 99: 79-90.

41. Maclachlan NJ, Henderson C, Schwartz-Cornil I, Zientara S. 2014. The immune response of ruminant livestock to bluetongue virus: from type I interferon to antibody. *Virus Res* 182: 71-77.
42. Maclachlan NJ, Zientara S, Willson WC, Richt JA, Sabini G. 2019. Bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses: recent developments with these globally re-emerging arboviral infections of ruminants. *Current Opinion in Virol* 34: 56-62
43. Mahy BW. 2008. Animal viruses: molecular Biology. *Emerg Infect Dis* 14: 867.
44. Meiswinkel R, Van Rijn PA, Leijds P, Goffredo M. 2007. Potential new Culicoides vector of bluetongue virus in northern Europe. *Vet Rec* 161(16): 564-565.
45. Mertens PP, Pedley S, Cowley J, Burroughs JN, Corteyn AH, Jeggo MH, Jennings DM, et al. 1989. Analysis of the roles of bluetongue virus outer capsid proteins VP2 and VP5 in determination of virus serotype. *Virology* 170: 561-565.
46. Mertens PP, Diprose J, Maan S, Singh KP, Attoui H, Samuel AR. 2004. Bluetongue virus replication, molecular and structural biology *Vet Ital* 40: 226- 237.
47. Ministerio del Ambiente. La Conservación de Bosques en el Perú. 2016. Programa Nacional de Conservación de Bosques para la Mitigación del Cambio Climático. Editado por Ministerio del Ambiente, Oficina de Comunicaciones. Primera Ed. p. 29.
48. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2017. Producción Pecuaria y Avícola 2017. [Internet]. [noviembre,2019]. Disponible en: http://siea.minagri.gob.pe/siea/sites/default/files/anuario-produccion-pecuaria-2017-261118_0.pdf
49. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2013. Cadena Productiva de ovinos. [Internet]. [marzo,2019] Disponible en:

http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/agroeconomia/agroeconomia_ovino.pdf

50. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2013. Manual de ovinos y buenas practicas 2013. [Internet]. [marzo,2019] Disponible en: http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/manuales-boletines/ovinos/manual_ovinos1.pdf
51. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2018. Peru recibe certificación oficial como país libre de fiebre aftosa. [Internet]. Disponible en: <http://www.minagri.gob.pe/portal/publicaciones-y-prensa/noticias-2018/21548-peru-recibe-certificacion-oficial-como-pais-libre-de-fiebre-aftosa>
52. Mohammed H. 2014. Prevalence of Bluetongue Virus Antibodies and Associated Risk Factors Among Cattle in East Darfur State. Tesis Doctoral. Sudan: University of Khartoum.89p.
53. McKercher DG, McGowan B, Howarth JA, Saito JK. 1953. A preliminary report on the isolation and identification of the bluetongue virus from sheep in California. J Am Vet Med Assoc 122: 300-301.
54. McVey DS, MacLachlan NJ. 2015. Vaccines for prevention of bluetongue and epizootic hemorrhagic disease in livestock: a North American Perspective. Vector-Borne Zoonot 15: 385-396.
55. Navarro D, Rivera H, Cáceres A, Rondón J. 2018. Identificación morfológica de Culicoides spp descritos como transmisores de Orbivirus capturados en granjas de ovinos en Pucallpa, Perú. Rev Inv Vet Peru 29: 302-309.
56. Navarro D, Rojas M, Jurado J, Manchego A, Ramírez M, Castillo A, Rivera H. 2019. Detección molecular del virus de Lengua Azul en Culicoides insignis y en ovinos de Pucallpa, Peru. Rev Inv Vet Peru 30: 465-476.

57. Noaman V, Arzani H. 2016. Environmental and host factors affecting seroprevalence of bluetongue virus infection of sheep. *Comp Clin Pathol* 26: 397-403.
58. [OIE] Organizacion Mundial de Sanidad Animal. 2018. Infección por el Virus de la Lengua Azul. [Internet]. [mayo, 2019]. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_bluetongue.pdf
59. Oura CA, Harrak M. 2010. Midge- transmitted bluetongue in domestic dogs. *Epidemiol & Infection* 139 (9): 1396-1400.
60. Parsonson, I. M. 1990. Pathology and pathogenesis of bluetongue infections. In *Bluetongue viruses* (pp. 119-141). Springer, Berlin, Heidelberg.
61. Patel A, Roy P. 2014. The molecular biology of Bluetongue virus replication. *Virus Res* 182 5-20.
62. Purse BV, Mellor PS, Rogers DJ, Samuel AR, Mertens PP, Baylis M. 2005. Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nat Rev Microbiol* 3: 171-181.
63. Purse BV, Carpenter S, Venter GJ, Bellis G, Mullens BA. 2015. Bionomics of temperate and tropical *Culicoides* midges: knowledge gaps and consequences for transmission of *Culicoides*-borne viruses. *Annu Rev Entomol* 60: 373-392.
64. Puschner B, Chen X, Read D, Affolter VK. 2016. Alfalfa hay induced primary photosensitization in horses. *Vet J* 211: 32-38.
65. Price DA, Hardy WT. 1954. Isolation of the bluetongue virus from Texas sheep-*Culicoides* shown to be a vector. *J Am Vet Med Assoc* 124: 255-258.

66. Ristow S, Leendersten L, Gorham J, Yilma T. 1988. Identification of a neutralizing epitope shared by bluetongue virus serotypes 2 and 13. *J Virol* 62: 2502-2504.
67. Rivera H, Madewell BR, Ameghino E. 1987. Serologic survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama pacos*). *Am J Vet Res* 48: 189-191.
68. Rivera H, Cárdenas L, Ramírez M, Manchego A, More J, Zúñiga A, Romero M. 2013. Infección por orbivirus en huanganas (*Tayassu pecari*) de Madre de Dios. *Rev Inv Vet Peru* 24: 544-550.
69. Rosadio RH, Evermann JF, DeMartini JC. 1984. A preliminary serological survey of viral antibodies in Peruvian sheep. *Vet Microbiol* 10: 91-96.
70. Roy P. 1989. Bluetongue virus genetics and genome structure. *Virus Res* 13: 179-206.
71. Rozo-Lopez P, Drolet B, Londoño-Renteria B. 2018. Vesicular Stomatitis Virus transmission: a comparison of incriminated Vectors. *Insects* 9: 190.
72. Santiago BU. 2011. SAIS Túpac Amaru LTDA N° 1, División de Producción. Producción de ovinos, Raza Junín. Primera edición. p 12-30.
73. Savini G, MacLachlan NJ, Sanchez-Vizcaino JM, Zientara S. 2008. Vaccines against bluetongue in Europe. *Comp Immunol Microb* 31: 101-120.
74. Savini G, Hamers C, Conte A, Migliaccio P, Bonfini B, Teodori L, Di Ventura M, et al. 2009. Assessment of efficacy of a bivalent BTV-2 and BTV-4 inactivated vaccine by vaccination and challenge in cattle. *Vet Microbiol* 133: 1-8.

75. Saegerman C, Bolkaerts B, Baricalla C, Raes M, Wiggers L, de Leeuw I, Vandenbussche F, *et al.* 2011. The impact of naturally-occurring, trans-placental bluetongue virus serotype-8 infection on reproductive performance in sheep. *Vet J* 187: 72-80.

76. Souza TS, Costa JN, Martinez PM, Costa Neto AO, Pinheiro RR. 2010. Anticorpos contra o vírus da língua azul em rebanhos ovinos da micror-região de Juazeiro, Bahia. *Arq Inst Biol* 77: 419-423

77. Scheie E, Flåøyen A, Moan J, Berg K. 2002. Phylloerythrin: mechanisms for cellular uptake and location, photosensitization and spectroscopic evaluation. *New Zeal Vet J* 50: 104-110.

78. Schwartz-Cornil I, Mertens PP, Contreras V, Hemati B, Pascale F, Bréard E, Mellor PS, *et al.* 2008. Bluetongue virus: virology, pathogenesis and immunity. *Vet Res* 39: 46.

79. Shringi S, Shringi BN. 2005. Comparative efficacy of standard AGID, CCIE and competitive ELISA for detecting bluetongue virus antibodies in indigenous breeds of sheep and goats in Rajasthan, India. *J Vet Sci* 6: 77-79.

80. Slifka MK, Amanna I. 2014. How advances in immunology provide insight into improving vaccine efficacy. *Vaccine* 32: 2948-2957.

81. Smith BL. 2000. Effects of low dose rates of sporidesmin given orally to sheep. *New Zeal Vet J* 48: 176-181.

82. Smith KE, Stallknecht DE. 1996. Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) collected during epizootics of hemorrhagic disease among captive white-tailed deer. *J Med Entomol* 33: 507- 510

83. Spreull J. 1905. Malarial catarrhal fever (bluetongue) of sheep in South Africa. *J Comp Pathol Therap* 18: 321-337.

84. Stott JL, Osburn BI. 1990. Immune response to bluetongue virus infection. In *Bluetongue viruses* (pp. 163-178). Springer, Berlin, Heidelberg.
85. Tabachnick WJ. 1996. *Culicoides variipennis* and bluetongue-virus epidemiology in the United States. *Annu Rev Entomol* 41: 23-43.
86. Temizel EM, Yesilbag K, Batten C, Senturk S, Maan NS, Mertens PP, Batmaz H. 2009. Epizootic hemorrhagic disease in cattle, Western Turkey. *Emerg Infect Dis* 15: 317-319.
87. Tweedle, N., Mellor, P. S. 2002. Technical review–bluetongue: The virus, hosts and vectors. Version 1.5. Report to the Department of Health, Social Services and Public Safety UK (DEFRA), 25 p.
88. [UNESCO]. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. 2009. Estudios de caso: Cambio Climático y Patrimonio Mundial. [Internet], [abril 2019]. Disponible en: <https://whc.unesco.org/document/102380>
89. Veronesi E, Hamblin C, Mellor PS. 2005. Live attenuated bluetongue vaccine viruses in Dorset Poll sheep, before and after passage in vector midges (Diptera: Ceratopogonidae). *Vaccine* 23: 5509-5516.
90. Verdezoto J. 2016. Investigación de Orbivirus en ganado vacuno y sus posibles vectores. Tesis de Maestría, Quito: USFQ 24p.
91. Verdezoto J, Breard E, Viarouge C, Quenault H, Lucas P, Sailleau C, Zientara S, et al. 2018. Novel serotype of bluetongue virus in South America and first report of epizootic haemorrhagic disease virus in Ecuador. *Transbound Emerg Dis* 65: 244-247.
92. Williamson S, Woodger N, Darpel K. 2008. Differential diagnosis of bluetongue in cattle and sheep. *In practice* 30: 242-251.

93. Wilson AJ, Mellor PS. 2009. Bluetongue in Europe: past, present and future. *Philos T Roy Soc B* 364: 2669-2681.
94. Zhang X, Boyce M, Bhattacharya B, Zhang X, Schein S, Roy P, Zhou ZH. 2010. Bluetongue virus coat protein VP2 contains sialic acid-binding domains, and VP5 resembles enveloped virus fusion proteins. *P Natl Acad Sci USA* 107: 6292-6297.